AU06T

使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要な時に読めるように保管しておいてください。

ＡＵ０６Ｔ

※ 2008 年 6 月改訂（第 2 版）
2007 年 10 月作成（第 1 版）

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：21400AMZ00570000

クラスⅢ汎用・免疫・内分泌検査用シリーズ
フェリチンキット

ルミパルスプレスト® フェリチン

■全般的な注意

1．本試薬は、体外診断用であるため、それ以外の目的には使用しないでください。
2．診断の際は、本測定値以外に他の検査結果や臨床症状等もあわせて考慮し、総合的に判断してください。
3．添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
※4．本試薬のフェリチンキャリブレータには、ヒト由来成分が含まれているため、感染の危険性があるものとして検体同様十分に注意して取扱ってください。
5．本試薬には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば、医師の手当等を受けてください。
6．本試薬の使用に際しては、本書とあわせ使用する測定システムの添付文書および取扱説明書をご参照ください。

■形状・構造等（キットの構成）

ルミパルスプレスト　フェリチンは下記構成試薬を組み合わせてご使用ください。

1．抗体結合粒子（２００回用、１０mL／ボトル）
抗フェリチンモノクローナル抗体（マウス）結合フェライト粒子を含みます。
本品は付属品として抗体結合粒子ボトル用のアッセイキャップAを1個含みます。

2．酵素標識抗体（２００回用、１０mL／ボトル）
アルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）標識抗フェリチンモノクローナル抗体（マウス）を含みます。
本品は付属品として酵素標識抗体ボトル用のアッセイキャップＢを1個含みます。

3．フェリチンキャリブレータ：２濃度×１
1）　　０ng／mL　フェリチンキャリブレータ（液状、１．５mL×１）
2）　１０００ng／mL　フェリチンキャリブレータ（液状、１．５mL×１）

※4．基質液（液状、１００mL×６）
基質としてＡＭＰＰＤ[注1)]を含みます。

5．洗浄液（濃縮液、４０００mL×１）

6．検体希釈液（液状、１０mL×１０）
本品は付属品としてアッセイキャップＢを１０個含みます。

注1） AMPPD：3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3''-phosphoryloxy)phenyl-1,2-dioxetane disodium salt ／ 3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3''-ホスホリルオキシ）フェニル-1,2-ジオキセタン・2ナトリウム塩

■使用目的

血清又は血漿中のフェリチンの測定

■測定原理

本試薬は２ステップサンドイッチ法に基づいた化学発光酵素免疫測定法によるフェリチン測定試薬です。

＜反応プロトコール；検体希釈２ステップモード＞

試薬・検体のセット

↓

第一反応
抗体結合粒子に結合した抗フェリチン抗体と検体中に含まれるフェリチンによる免疫複合体が形成されます。
検体、フェリチンキャリブレータ１０μＬは自動的に検体希釈液１９０μＬと混合されます。抗フェリチン抗体が結合した抗体結合粒子５０μＬに、希釈済みの検体、またはフェリチンキャリブレータ２０μＬが分注されます。反応液は、撹拌後３７℃で８分間インキュベートされます。

↓

洗浄
反応液除去の後、抗体結合粒子の洗浄が行われます。
粒子は磁石によって集められ、反応液が除去されます。洗浄液注入、洗浄液の除去が繰り返され、粒子が洗浄されます。

↓

第二反応
抗フェリチン抗体を介して結合した検体中のフェリチンと、アルカリホスファターゼ標識抗フェリチン抗体（酵素標識抗体）による免疫複合体が形成されます。
酵素標識抗体５０μＬと抗体結合粒子が混合されます。反応液は３７℃で８分間インキュベートされます。

↓

洗浄
再び反応液除去の後、抗体結合粒子の洗浄が行われます。
粒子は磁石によって集められ、反応液が除去されます。洗浄液注入、洗浄液の除去が繰り返され、粒子が洗浄されます。

↓

酵素反応
基質液２００μＬを粒子に加え撹拌後、３７℃で４分間反応させます。

↓

測光
波長４６３nmに発光極大を持つ光の発光量を測定します。
基質液に含まれるＡＭＰＰＤは、粒子に間接的に結合したアルカリホスファターゼの触媒作用により分解します。分解に伴って放出される光は、粒子に結合したフェリチン量を反映するため、これを測定することによってフェリチン濃度の測定を行うことができます。

検体中のフェリチン濃度が測定範囲を超えた場合は、検体希釈液を用いて検体を希釈し再測定してください。

■操作上の注意

1．測定検体の性質、採取法

1）　可能な限り新鮮な検体を用い、保存する場合は－２０℃以下で凍結保存してください。
2）　検体を繰り返し凍結融解することは避けてください。
3）　赤血球・その他の有形成分、沈殿物、浮遊物が含まれている検体では、測定値に影響を与える場合があります。正しい結果が得られるように遠心または除去した後に使用してください。
4）　検体間の汚染が生じないように検体は注意して取扱ってください。
5）　検体を非働化することによる影響はありません。
6）　検体に抗凝固剤（ＥＤＴＡ－二カリウム、クエン酸ナトリウム、ヘパリンナトリウム）を添加して試験した結果、それぞれ１０mg／mL、３８mg／mL、１００Ｕ／mLまで測定値に影響は認められませんでしたが、液状の抗凝固剤を用いる場合は、検体の希釈率にご注意ください。

2．妨害物質・妨害薬剤

1）　検体にビリルビンF、ビリルビンC、ヘモグロビンを添加して試験した結果、それぞれ19．4mg／dL、20．9mg／dL、523mg／dLまで、測定値に影響は認められませんでした。また、乳ビに関しても、２８００濁度まで測定値に影響は認められませんでした。
2）　１５０００００ng／mLの検体を測定した時、ハイドーズフックによる影響は認められませんでした。

■用法・用量（操作方法）

1．試薬の調製法

1）　抗体結合粒子
冷蔵庫から出してそのまま使用します。
試薬を装置にセットする場合は、試薬を泡立てないようにゆるやかに２０回以上転倒混和してください。
2）　酵素標識抗体
冷蔵庫から出してそのまま使用します。転倒混和はしないでください。
3）　フェリチンキャリブレータ
常温に戻してから軽く転倒混和して使用します。
デッドボリュームを考慮して、サンプルカップに必要量を滴下します。キャリブレータ１滴あたりのおよその滴下量は４５μＬです。滴下量は容器を押す強さや気泡の混入によって変動します。デッドボリュームはご使用の測定システムによって異なりますので各測定システムの取扱説明書をご覧ください。一例としてルミパルスＰｒｅｓｔｏⅡでサンプルカップをご使用の場合、デッドボリュームは１００μＬとなります。
4）　基質液
冷蔵庫から出してそのまま使用します。
5）　洗浄液
洗浄液は、測定システムの取扱説明書に従い補充します。洗浄液は装置内で自動的に精製水で１０倍に希釈されます。
6）　検体希釈液
冷蔵庫から出してそのまま使用します。転倒混和はしないでください。

２. 必要な器具・器材
1) ルミパルスＰｒｅｓｔｏ用サンプリングチップ
2) ルミパルスＰｒｅｓｔｏ用キュベット
3) ルミパルスＰｒｅｓｔｏ用アッセイキャップA、アッセイキャップB
4) マイクロピペット、サンプルカップ
5) 全自動化学発光酵素免疫測定システム

３. 測定法
1) 測定システムの取扱説明書を参照し、検体および測定に必要な試薬を所定の位置にセットしてください。(サンプルの最少必要量は、使用する容器や測定システムによって異なりますので、各測定システムの取扱説明書をご覧ください。)
2) 抗体結合粒子、酵素標識抗体および検体希釈液のボトルキャップを静かに外し、口元に付着している試薬は清潔な紙等でふき取ります。ボトル内に泡立ちが残っているときはしばらく放置して泡立ちがないことを確認するか、または清潔な綿棒等を用いて取除きます。
3) アッセイキャップを取付けます。取付け方は、下記の8) アッセイキャップの取付け方の欄をご参照ください。
4) ボトルのバーコードが濡れていたり、汚れていたりした場合は、ふき取ってからセットしてください。
5) 試薬を試薬保冷庫内のカローセルにセットします。抗体結合粒子はカローセルAに、酵素標識抗体および検体希釈液はカローセルBに、それぞれセットします。試薬は、カローセルの空いている場所のどこにでもセットすることができます。また、装置からカローセルを取出して試薬をセットすることもできます。ボトルをセットした後はカローセルを静かに装置の所定位置へ戻します。
6) 基質液は蓋を取外し、基質保冷庫へセットします。
7) 洗浄液は、測定システムの取扱説明書に従い補充します。
8) アッセイキャップの取付け方
アッセイキャップは装置にセットした試薬の蒸発や汚染を防ぐために使用します。新しいボトルを装置にセットする際には、新しいアッセイキャップを取付けてからご使用ください。取付けない場合は、測定結果の信頼性は保証できません。取付けた後は、アッセイキャップに液が付着しないように、装置にセットするまでボトルを傾けないよう注意して取扱ってください。

・アッセイキャップAの取付け方
アッセイキャップAは、抗体結合粒子ボトルの口元に乗せ、回しながら止まるまで締めて取付けます。アッセイキャップAの外側を上から静かに押し(図1)、内部のゴムスリットが開口することを確かめます(図2)。
スリットに膜が形成されている場合はアッセイキャップAを一旦取外し、清潔な紙等で裏のゴム表面の液体をふき取り、再びボトルに取付けます。
ゴムスリットがきちんと開口しないときや、アッセイキャップAが円滑に動かないときは、再度外側を押して確認します。改善がみられないときは新しいアッセイキャップAに交換してください。

図１：アッセイキャップAを取付け、上から押します。
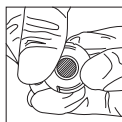
図２：ゴムスリットが開口することをボトル上面から確認します。

・アッセイキャップBの取付け方
アッセイキャップBは、酵素標識抗体ボトルおよび検体希釈液ボトルに使用します。取付ける際は、まずボトルキャップを外し代わりにアッセイキャップBをボトル口元に乗せます。図3のように、ボトル上部の鍔(つば)とアッセイキャップB下部の突起が、ぶつかって止まるまで回しながら締めて取付けます。
図3の★の位置を上から指で押して、蓋が開くことを確かめます(図4)。
ボトルの口に膜が形成されている場合は清潔な紙等で蓋のゴム表面に付着した液体をふき取ってください。
アッセイキャップBが締まらないときや、押しても蓋が円滑に動かないときは一旦取外し、再度取付けます。改善がみられないときは、新しいアッセイキャップBに交換してください。

図３：アッセイキャップBを取付け、★を押します。

図４：蓋が開口することを確かめます。

9) 試薬の他に、測定に必要なサンプリングチップおよびキュベットが十分量投入されていること、精製水タンク、洗浄液タンク、濃縮洗剤タンクの残量が十分であることを確認します。
10) 分析の受付操作を行います。
11) 検体を検体分析用のラックにセットし、装置の所定位置にセットします。精度管理分析の場合は精度管理分析用のラックを、キャリブレーション分析の場合はキャリブレーション分析用のラックをそれぞれ使用します。
12) 外箱記載のデータ入力バーコードには、フェリチンキャリブレータの使用期限およびロット番号が記録されています。装置付属のバーコードリーダーを用いて読み取ることにより、キャリブレータのロット管理を自動的に行うことができます。
13) スタートキーを押して測定を開始します。装置内で自動的に実行される操作については測定原理の「反応プロトコール」の項を参照ください。

４. 濃度の算出法
マスターキャリブレーションデータは、酵素標識抗体ボトルの2次元バーコードに記録されています。検体中のフェリチン濃度は、フェリチンキャリブレータの発光量をもとに較正された検量線から自動的に算出されます。また複数装置をお使いの場合は1台ごとに検量線を作成してください。
フェリチンキャリブレータの測定は以下の場合に行います。
・ 抗体結合粒子、酵素標識抗体、基質液のいずれかが、新しいロットに切り替わった場合。
・ キャリブレーションデータを更新後、30日が経過した場合。
上記以外においても必要が生じた場合は、キャリブレータを測定しキャリブレーションデータを更新してください。
検体中のフェリチン濃度が、1000ng/mLを超える場合は、検体希釈液を用いて希釈し、再測定してください。

■測定結果の判定法

１. 参考基準範囲
健常者396例(男性285例、女性111例)の血清および血漿中のフェリチン濃度を所定の操作で測定し、測定値を対数変換で正規化して求めたところ以下の結果が得られました。
男性：平均値±1.96SD　45.9～332.3ng/mL、
女性：平均値±1.96SD　3.8～123.1ng/mL

２. 判定上の注意
1) 基準範囲は、測定条件や検体によって異なることがありますので、各施設に適した基準範囲を設定してください。
2) 検体中に存在する未同定の非特異反応性物質の影響により、まれに測定値が正確に得られない場合がありますので、他の検査結果や臨床症状等もあわせて考慮し、総合的に判断してください。

■臨床的意義

フェリチンは、肝実質細胞および肝、脾、骨髄などに広く分布する分子量約45万の蛋白で、生体における鉄貯蔵の役割を担っています。血清フェリチン値は体内貯蔵鉄量をよく反映するため、鉄欠乏症貧血などの鉄代謝異常を呈する疾患の鑑別、再生不良性貧血、ヘモクロマトーシスやヘモジデローシスなどの各種血液疾患における貯蔵鉄量の判定に有用とされています。また、種々の悪性腫瘍や肝炎では細胞崩壊に伴うフェリチンの異常放出により、貯蔵鉄量とは無関係に血清フェリチン値が上昇する為、これらの疾患の診断および治療効果判定に血清フェリチン測定は有用であると言われています[1-7]。
本試薬は化学発光基質(AMPPD)を用いた化学発光酵素免疫測定法[8](CLEIA；chemiluminescent enzyme immunoassay)に基づく試薬で、全自動化学発光酵素免疫測定システム(代表例：ルミパルスＰｒｅｓｔｏⅡ)専用試薬です。

■性能

１. 性能
1) 感度
フェリチン溶液を所定の操作で測定するとき、50ng/mL フェリチン溶液と0ng/mL フェリチンキャリブレータの発光量の比は51以上になります。
2) 正確性
自家管理検体3例を所定の操作で測定するとき、測定値は各管理値に対して±20%以内になります。
3) 同時再現性(併行精度)
自家管理検体を所定の操作で6回繰り返し測定するとき、変動係数(CV値)は10%以下になります。
4) 測定範囲
本試薬の測定範囲は、0.3ng/mL～1000ng/mLです。
全自動化学発光酵素免疫測定システム(代表例:ルミパルスＰｒｅｓｔｏⅡ)では0.1ng/mLから出力されます。
5) 検出限界
0ng/mL フェリチンキャリブレータと希釈したフェリチンキャリブレータを所定の操作で20回繰り返し測定し、0ng/mL フェリチンキャリブレータの平均値+3SDと、希釈したフェリチンキャリブレータの平均値−3SDが区別できる最小濃度を検出限界として求めたとき、値は0.125ng/mLとなりました。
6) 定量限界
希釈したフェリチンキャリブレータを所定の操作で20回繰り返し測定し、測定値の変動係数(CV値)が10%以下となる最小濃度をもとに、測定間差を考慮して定量限界を求めたとき0.2ng/mLとなりました。

２. 相関性試験成績
1) 血清検体96例を使用し、ルミパルス　フェリチン−N(自社品)との相関性を検討した結果、以下に示す成績が得られました。

測定例数：n＝96
相関係数：r＝0.997
回帰式　：y＝0.96x＋4.37
（x；ルミパルス　フェリチンーN
y；ルミパルスプレスト　フェリチン）

2） 血清検体43例を使用し、既存EIA法との相関性を検討した結果、以下に示す成績が得られました。
測定例数：n＝43
相関係数：r＝0.997
回帰式　：y＝1.00x－2.50
（x；既存EIA法
y；ルミパルスプレスト　フェリチン）

3） 同一人から採取した血清・血漿ペア検体65例（抗凝固剤：ヘパリンナトリウム）を使用し、本試薬にて相関性を検討した結果、以下に示す成績が得られました。
測定例数：n＝65
相関係数：r＝0.998
回帰式　：y＝0.96x＋1.88
（x；血清、y；血漿）

2. 較正用の基準物質（標準物質）

フェリチンキャリブレータの値は、NIBSC(National Institute for Biological Standards and Control）の標準物質（3rd INTERNATIONAL STANDARD FOR FERRITIN, RECOMBINANT；94/572）を基準に設定されています。

■使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上（危険防止）の注意

1） 検体はHIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取扱ってください。
2） 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行なわないでください。
3） 基質液はアルカリ性溶液（pH10）です。使用に際しては、液が皮膚についたり、目に入らないように注意してください。
4） 試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば、医師の手当等を受けてください。

2. 使用上の注意

1） 使用に際しては本書、装置の添付文書ならびに取扱説明書に記載された使用法に従ってください。
2） 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。各構成試薬外箱および容器の表示をご確認のうえ使用してください。
3） サンプリングチップ、キュベット、サンプルカップは指定のものを使用してください。
4） サンプリングチップ、キュベット、サンプルカップは常に新しいものを使用してください。
5） フェリチンキャリブレータ滴下の際に液滴の中に気泡が多量に混入する場合は、残量が僅かですので新しいボトルを使用してください。サンプルカップに泡が残りますとサンプリング不良の原因になる場合があります。
6） フェリチンキャリブレータは、常温に戻してから使用してください。
7） 試薬は保存条件を守って使用してください。特に凍結しないように注意してください。
8） 本試薬は装置にセットしたまま保存することができます。開封後の抗体結合粒子、酵素標識抗体および検体希釈液は30日間有効です。装置にセットした後は、30日以内に使用してください。基質液と洗浄液は容器に表示した使用期限まで有効ですが、基質液を装置にセットした後は交換時まで取外しは避けてください。
9） 検体、フェリチンキャリブレータは蒸発による濃縮を考慮し、サンプルの準備後は速やかに測定を開始してください。
10）新しいボトルを装置にセットする際には、新しいアッセイキャップを取付けてから使用してください。取付けない場合は、測定結果の信頼性は保証できません。
11）装置から取出して試薬を保存するときは、アッセイキャップを取外し試薬のボトルキャップに取替えてから2～10℃で保存してください。アッセイキャップを取付けたまま保存した場合は、測定結果の信頼性を保証できません。再度ボトルを装置にセットする際には、新しいアッセイキャップを使用してください。
12）アッセイキャップを取付けるときは、汚染防止のため手袋を着用してください。
※13）箱に同封されている抗体結合粒子と酵素標識抗体のラベルには、同じ試薬ロットNo．が印字されています。試薬は、異なる試薬ロットNo．の組み合わせでは使用できません。ボトルはラベルの試薬ロットNo．を確認してから装置にセットしてください。
14）試薬を混ぜ合わせて使用できません。
15）正確な測定を行うために、精製水は常に新しいものを使用してください。
16）基質液を装置にセットした後は、基質液交換時まで取外しは避けてください。基質液がアルカリホスファターゼ（ALP）に汚染されますと使用できません。手指が直接基質液に触れた場合は、廃棄してください。
17）ソーダライムは交換せずに長期間使用を続けると、二酸化炭素の吸収力が低下します。また基質キャップパッキンも交換せずに長期間使用を続けると、密閉性が失われ基質液を劣化させる原因となります。ソーダライムと基質キャップパッキンの交換時期についてはご使用の測定システムの取扱説明書をご覧ください。一例としてルミパルスPrestoⅡの場合は1ヵ月ごとに交換してください。

3. 廃棄上の注意

1） 各試薬には保存剤として以下のとおりアジ化ナトリウムが含まれています。廃棄する際は爆発性の金属アジドが生成されないように多量の水とともに流してください。
洗浄液：1.0％（希釈調製前）、基質液：0.05％
抗体結合粒子、酵素標識抗体、フェリチンキャリブレータ、検体希釈液：0.1％
2） 試薬および容器等を廃棄する場合は、廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等区別して処理してください。
3） 廃液の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法などの規制に従って処理してください。
4） 使用した器具（ピペット、試験管等）、廃液、サンプリングチップ等は、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1000ppm、1時間以上浸漬）、グルタールアルデヒド（2％、1時間以上浸漬）等による消毒処理あるいは、オートクレーブ（121℃、20分以上）による滅菌処理を行ってください。
5） 検体、廃液等が飛散した場合には次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1000ppm、1時間以上浸漬）、グルタールアルデヒド（2％、1時間以上浸漬）等によるふき取りと消毒を行ってください。

■貯蔵方法・有効期間

抗体結合粒子	2～10℃に保存	有効期間：1年
酵素標識抗体	2～10℃に保存	有効期間：1年
フェリチンキャリブレータ	2～10℃に保存	有効期間：1年
基質液	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月
洗浄液	室温（1～30℃）に保存	有効期間：9ヵ月
検体希釈液	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月

使用期限については、各構成試薬の外箱および容器の表示をご参照ください。

※■包装単位

個別包装

コードNo.	品名	包装
291382	ルミパルスプレスト　フェリチン （抗体結合粒子・酵素標識抗体）	200回用 （各10mL×1）
291702	ルミパルスプレスト　フェリチン フェリチンキャリブレータ	2濃度×1
291122	ルミパルスプレスト　基質液 （共通試薬）	100mL×6
291139	ルミパルスプレスト　洗浄液 （共通試薬）	4000mL×1
291146	ルミパルスプレスト　検体希釈液 （共通試薬）	10mL×10

■主要文献

1） Laufberger MV：Sur la cristallisation de la ferritin. Bull Soc Chim Biol,19：1575～1582, 1937.
2） Jacobs A, et al.：Ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. Br Med J, 28：206～208, 1972.
3） Walters GO, et al.：Serum ferritin concentration and iron stores in normal subjects. J Clin Path, 26：770～772, 1973.
4） Lipschitz DA, et al.：A clinical evaluation of serum ferritin as index of iron stores. N Engl J Med, 290：1213～1216, 1974.
5） 熊谷昌明、恒松由紀子：小児の臨床検査指針Ⅰ　血液・凝固・線溶　血球免疫化学検査　フェリチン. 小児科診療, 59：16～18, 1996.
6） 日比成美：小児の臨床検査指針Ⅶ腫瘍マーカー　フェリチン. 小児科診療, 59：500～502, 1996.
7） 加藤淳二、新津洋司郎：診断に役立つ臨床検査とその意義：血清蛋白・アミノ酸・窒素化合物　フェリチン. Modern Physician, 13：1543～1544, 1993.
8） Nishizono I, et al.：Rapid and sensitive chemiluminescent enzyme immunoassay for measuring tumor markers. Clinical Chemistry, 37：1639～1644, 1991.

■問い合わせ先

富士レビオ株式会社　お客様コールセンター
TEL：0120-292-832
FAX：03-5695-9234

本製品は、Applied Biosystems.から導入した技術に基づいて製造したものです。